

OPTIMIZATION OF ULTRASOUND AND ENZYME ASSISTED EXTRACTION  
OF EURYCOMANONE FROM *EURYCOMA LONGIFOLIA* (TONGKAT ALI)

HE YUHAI

Thesis submitted in fulfillment of the requirements  
for the award of the degree of  
Doctor of Philosophy

Faculty of Chemical Engineering & Natural Resources  
UNIVERSITI MALAYSIA PAHANG

June 2018

## ABSTRAK

Pengekstrakan Eurycomanone dari *E. longifolia* secara konvensional lazimnya dilakukan melalui kaedah rebusan, di mana kualiti produk yang dihasilkan serta masa pengekstrakan adalah tidak sempurna dan tidak efektif. Pendedahan kepada pelbagai kondisi proses yang tidak ampuh biasanya akan menghasilkan produk sampingan atau metabolit. Bagi menangani masalah ini, kajian akan dilakukan ke atas kaedah pengekstrakan alternatif yang berkesan di mana ianya mampu meningkatkan hasil dan kualiti produk yang telah diekstrak. Pengekstrakan *E. longifolia* di dalam kajian ini telah dijalankan menggunakan beberapa pendekatan pengekstrakan, termasuklah kaedah bantuan ultrasonik dan enzim. Pelbagai faktor dalam proses pengekstrakan telah dikaji menggunakan OFAT dan dioptimumkan menggunakan FCCCD dalam RSM. Kaedah pengekstrakan konvensional menggunakan rebusan telah dikaji dan didapati ianya menunjukkan prestasi yang lebih baik berbanding kaedah Soxhlet, di mana sebanyak 0.237% hasil Eurycomanone telah dihasilkan. Walaupun pengekstrakan Soxhlet mencapai hasil yang signifikan, proses pengekstrakannya tidak dapat dioptimumkan berikutan dengan produk yang dihasilkan telah rosak disebabkan oleh suhu tinggi yang digunakan di dalam sistem Soxhlet tersebut. Hasilnya, kaedah rebusan telah digunakan bagi menentukan keberkesanan kaedah pengekstrakan menggunakan ultrasonik, laccase dan cellulase. Antara kaedah yang digunakan bagi pengekstrakan Eurycomanone adalah; kaedah bantuan ultrasonik, kaedah bantuan enzim cellulase, kaedah bantuan enzim laccase, kaedah gabungan enzim cellulase-laccase, kaedah gabungan ultrasonik-enzim cellulase, kaedah gabungan ultrasonik-cellulase-laccase dan kaedah gabungan ultrasonik-enzim laccase. Kaedah pengekstrakan bantuan ultrasonik menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.294%; kaedah bantuan enzim cellulase menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.20%; kaedah bantuan enzim laccase menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.215%; kaedah gabungan enzim cellulase-laccase menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.176%; kaedah gabungan ultrasonik-enzim cellulase menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.152%; kaedah gabungan ultrasonik-cellulase-laccase menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.190%; kaedah gabungan ultrasonik-cellulase-laccase menghasilkan kepekatan Eurycomanone yang optimum sebanyak 0.193%. Kaedah pengekstrakan bantuan ultrasonik menghasilkan kepekatan eurycomanone yang paling tinggi iaitu 0.294% di mana faktor utamanya adalah disebabkan oleh kadar pembentukan peronggaan dan kerosakan yang dihasilkan dari kadar intensiti proses sonifikasi. Proses pengekstrakan menggunakan bantuan enzim tidak menunjukkan hasil yang baik, tetapi tempoh pengekstrakan telah dapat dikurangkan kepada 1 jam iaitu sama dengan masa yang digunakan untuk pengekstrakan bantuan ultrasonik. Oleh itu, dari segi penjimatan masa pengekstrakan, kaedah bantuan enzim laccase boleh dipertimbangkan sebagai salah satu kaedah yang efektif walaupun jumlah produk yang dihasilkan tidak setanding dengan hasil dari kaedah bantuan ultrasonik. Kajian dari SEM menunjukkan kesan yang nyata proses

pengekstrakan ke atas permukaan substrat. Semua proses pengekstrakan mempunyai kesan yang maksimum ke atas bahan pepejal tetapi kesan pengekstrakan bantuan ultrasonik adalah lebih jelas berbanding kaedah-kaedah pengekstrakan yang lain. **Kesimpulannya**, penggunaan kaedah pengekstrakan bantuan ultrasonik untuk mengekstrak keluar eurycomanone dari *E. longifolia* boleh diklasifikasikan sebagai salah satu pendekatan yang efektif dan produktif.

## ABSTRACT

Eurycomanone extraction from *E. longifolia* is conventionally done using decoction method, but most times, the product quality, yield, and extraction duration are not ideal. Exposure to unfavorable process conditions usually results in the formation of product metabolites. To address these problems, the alternative extraction methods that increases the product yield ought to be investigated. In this study, several approaches, including ultrasound and enzyme-assisted methods were studied. Different parameters for the extraction process were screened using OFAT and optimized using FCCCD of RSM. The conventional method of decoction and Soxhlet were studied for eurycomanone extraction, and decoction was found of better performance which gives eurycomanone yield of 0.237 %. The Soxhlet extraction achieved a significant model while the process wasn't able to be optimized because of the degradation of the final product due to the high temperature employed in Soxhlet system. Thus, decoction was used as the control for indicating that if the use of ultrasound, laccase and cellulase could make a better yield of eurycomanone. The methods studied for the extraction of eurycomanone are ultrasound-assisted extraction, cellulase enzyme-assisted extraction, laccase enzyme-assisted extraction, cellulase enzyme-laccase enzyme combined extraction, laccase enzyme-ultrasound combined extraction, cellulase enzyme-ultrasound combined extraction, cellulase enzyme-laccase enzyme-ultrasound combined extraction. **Ultrasound-assisted** extraction gives optimum eurycomanone yield of 0.294 %; **Cellulase enzyme-assisted** makes optimum eurycomanone yield of 0.20 %; **Laccase enzyme-assisted** extraction makes optimum eurycomanone yield of 0.215 %; **Cellulase-laccase enzyme** makes optimum eurycomanone yield of 0.176 %; **Cellulase enzyme-ultrasound combined extraction** makes optimum eurycomanone yield of 0.152 %; **Laccase enzyme-ultrasound combined extraction** makes optimum eurycomanone yield 0.190 %; **Cellulase-laccase-ultrasound combined extraction** makes optimum eurycomanone yield of 0.193 %. The ultrasound-assisted extraction method yielded the highest eurycomanone (0.294%) which was mainly due to disruption of the cell wall by the cavitation formation and collapse of the sonication process. The enzyme assisted extraction didn't show a better extraction, however, it is remarkable that the use of laccase made the extraction period shortened to 1h which same as the time used by the ultrasound assisted extraction. Thus, in consideration of time saving in the extraction, laccase enzyme-assisted extraction should also be considered even though its yield is not as high as ultrasound-assisted extraction. SEM studies revealed a considerable effect of the extraction processes on the surface of the substrates. All the extraction processes had considerable effects on the solid material but the effects of ultrasound assisted extraction were more pronounced. **In conclusion**, the use of ultrasound assisted methods for the extraction of eurycomanone from *E. longifolia* could be considered effective and friendly approaches.